vom Verfasser d. Arb.
in ergebenster Ergebenheit

Aus dem Laboratorium der I. med. Klinik (Geh.-Rath v. Leyden)
und des pathologischen Instituts.

Lane Medical Library

Ueber das Verhalten des Klebs-Löffler'schen Diphtheriebacillus in der Milch

nebst einigen Bemerkungen zur Sterilisation derselben.

Inaugural-Dissertation,

welche zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medicin und Chirurgie

mit Zustimmung

der Hohen Medicinischen Facultät

der

Kgl. Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

am 14. October 1897

nebst den angefügten Thesen

öffentlich vertheidigen wird

der Verfasser

Ludwig Feinberg

aus Königsberg i. Pr.

Opponenten:

Herr Dr. med. Blumenthal, Oberarzt an der Kgl. Charité.
Herr Dr. med. Boether, Kgl. Unterarzt.
Herr Cand. med. Baum.

Berlin 1897.

Gedruckt bei L. Schumacher.

Dem Andenken

meiner verstorbenen Schwester.

Unter den sehr interessanten Berichten über das Verhalten einer bestimmten Bakterienart in der Milch, so der Cholerlabacillen durch Hesse auf dem internationalen XI. medicinischen Congress in Rom und den Veröffentlichungen über das Gedeihen oder Absterben anderer Bakterien in der Milch — ich erwähne nur die von Caro über das Verhalten des Milzbrandbacillus in der Milch in Neapel, von Flügge[1]) über die in seiner Arbeit „über die Sterilisation der Milch" trotz der Sterililation sich stets vorfindenden Heubacillen, von Lübbert[2]) über ebendieselben, von Blumenthal[3]) „Ueber die Producte der bakteriellen Zersetzung der Milch" bis herab auf die jüngste Publication von Schottelius[4]) „Ueber das Wachsthum der Diphtheriebacillen in Milch" — die erschien, als vorliegende Arbeit sich ihrem Ende zuneigte, beschäftigte sich die Mehrzahl dieser Autoren nur mit dem Wachsthum der einzelnen Bakterienarten in der Milch (wie es ja schon aus dem Titel der einzelnen Arbeiten oft hervorgeht), während der weitaus geringere Theil der Arbeiten die Veränderungen der Milch, die unter dem Einfluss dieser Bakterien stattthaben, einer Prüfung unterzogen hat. So interessant nun auch diese Berichte über das morphologische Verhalten der Bacillen in der Milch und, so bedeutungsvoll schon die Erkenntniss allein von dem fruchtbaren Gedeihen einzelner Krankheitserreger in der Milch für die ge-

1) Zeitschrift für Hygiene. 1894. S. 272.

2) Ueber die peptonisirenden Bakterien in der Milch. Zeitschrift für Hygiene. 1896. S. 1.

3) Virchow's Archiv. Bd. 146. H. 1.

4) Centralblatt für Bakteriologie. Bd. 20. No. 25.

sammte praktische Medicin war, so dürfte es auch vielleicht von nicht weniger grossem biologischen Interesse sein, zu erfahren, wie die einzelnen pathogenen Mikroorganismen eines unserer wichtigsten Nahrungsmittel überhaupt verändern, ob ferner die Milch nur der Träger der Infectionskeime oder ob in ihr chemische Stoffe durch die Einwirkung dieser Keime entstehen, die dem Organismus schädlich sein können, — vielleicht, dass auch die praktische Medicin aus solchen Berichten, wie ja so häufig aus anscheinend rein theoretischen Resultaten Anregungen empfängt. Bei der Beschäftigung mit dieser Frage, wie und ob sich die Milch unter dem Einfluss der einzelnen Bakterienarten verändert, lag es nahe, den im Vordergrund des Interesses stehenden Diphtheriebacillus zu wählen.

Bevor ich jedoch an diese, meine eigentliche Aufgabe gehe, das Verhalten der Diphtheriebacillen in der Milch mitzutheilen, möchte ich noch einige Bemerkungen vorausschicken betreffs der Sterilisation der Milch. Der Grund zu diesem „Diverticulum“ liegt in dem Fehler, den vorliegende Arbeit zuerst erfuhr. — Um die Milch mit Diphtheriebacillen zu impfen, musste dieselbe natürlich, da es ja auf das Verhalten allein der Diphtheriebacillen in der Milch ankam, vollständig steril sein. Die Sterilisation der Milch geschah nun in folgender Weise:

Es wurden bestimmte Quantitäten frischer Milch in sterile Kolben und Reagensröhrchen gebracht, und dieselben dann einer Temperatur von 100° C. im Dampfkochtopf 2 Stunden (vom Beginn des Ausströmens des Dampfes an gerechnet) ausgesetzt. Dann wurde die Milch in einer Temperatur von 22° 24 Stunden stehen gelassen und dann nochmals im Dampfkochtopf 2 Stunden erhitzt. In dieser Weise wird auch, soviel ich weiss, oft verfahren. Dann wurden die einzelnen Kolben mit Diphtheriebacillen vollvirulenter Culturen beschickt und in den Brutschrank gesetzt. Nachdem nach einer bestimmten Zeit — die Menge der Milch, wie die Zeitdauer, während welcher die einzelnen Kolben im Brutschrank der Einwirkung der Bacillen überlassen wurden, war eine verschiedene, je nach den Versuchen, die angestellt werden sollten — behufs der Untersuchung der einzelnen Kolben Abstrichpräparate und Agarculturen angelegt waren, fanden sich Bakterien, die in ihrem Aussehen nur dann für Diphtheriebacillen angesehen werden konnten, wenn letztere grosse Veränderungen durchgegangen waren. Man sah unter dem Mikroskop kolossale Verästelungen und Verzweigungen, die zwar ähnlich schon von C. Fränkel[1]) auf Hühnereiweiss beobachtet und von J. Bernheimer und C. Folger (Centralbl. f. Bakt. XX. Bd. S. 1) bestätigt worden sind, die sich aber doch in ausserordentlicher Auffälligkeit darboten. In der zweifelhaften Ansicht, dass diese eigenthümlichen dünnen Verzweigungen Diphtheriebacillen sein könnten, wurde ich dadurch meines Zweifels zuerst enthoben, dass sich in einigen Kolben Milch die Diphtheriebacillen in ihrem gewöhnlichen Aussehen vorfanden und zwar — zufällig — in den Kolben, die nur kurze Zeit im Brutschrank gestanden, so dass ich mich der Meinung zuneigte, dass erst bei längerer Einwirkung der Diphtheriebacillen letztere in der Milch eine derartige Veränderung eingegangen waren. —

---

1) Hygienische Rundschau.

Ich legte dann später meine Präparate Herrn Oberarzt Dr. Kossel,[1]) Assistent am Institut für Infectionskrankheiten vor, der so liebenswürdig war, mich darauf aufmenrksam zu machen, dass in den Präparatun neben diesen verzweigten Formen sich Sporen fanden, die unmöglich den Diphtheriebacillen angehören konnten, sodass also entweder eine Milchcultur oder eine Verunreinigung vorhanden war oder aber die Misch nicht steril gewesen.

Obgleich diese Milchkolben bereits Untersuchungen unterworfen waren, mussten die Versuche zur Richtigstellung der Verhältnisse wiederholt werden und zwar wurde so verfahren, dass auf dieselbe Weise wie vorhin mitgetheilt, eine Anzahl grösserer und kleinerer Gefässe sterilisirt und dann im Brutschrank sich selbst einige Tage überlassen wurde. In fast allen Kolben fanden sich dann Bakterien, nur in einigen wenigen nicht. Diese wenigen steril gebliebenen Gefässe enthielten nur geringe Quantität Milch (höchstens 50ccm) und nun glaube ich den Grund für die Sterilität eines Theils der Gefässe und für die nicht steril erhaltenen anderen Gefässe darin sehen zu sollen, dass in der geringen Quantität Milch die Bacillen vernichtet waren, in den grösseren Mengen nicht, ein Grund, der mich auch verstehen liess, besonders noch aus den späteren Ergebnissen, weshalb ich bei den früheren Untersuchungen in den einzelnen Gefässen die gewöhnlichen Formen der Diphtheriebacillen fand, in anderen aber eben diejenigen, die sich bei nunmehriger Prüfung als Heubacillen ergaben.

Wenn ich nun diese Erfahrungen in Parallele bringe mit den Thatsachen, die Flügge[2]) schon im Jahre 1894 mittheilte, Thatsachen, die von grosser Wichtigkeit für die Bakteriologie, aber von noch viel grösserer Bedeutung für die ganze praktische Frage der Milchsterilisation waren, so geben sie zunächst nichts als eine Bestätigung der Mittheilung Flügge's. Flügge giebt an, dass ein Milchquantum, das steril gemacht werden sollte, eine Anzahl von Tagen — nicht weniger als vier — je eine Stunde im Dampfkochtopf erhitzt werden sollte. Im Anschluss an diese Auseinandersetzungen giebt Flügge den Rath, Milch, die man zu wissenschaftlichen Zwecken brauchte, sich aus der Warener Fabrik kommen zu lassen, da es im Laboratorium nicht immer sicher gelingen würde, vollständig Milch zu sterilisiren. „Ich bin überzeugt", so meint Flügge, „dass in den Laboratorien nicht selten ein unvollständig sterilisirte Milch zu Culturzwecken benutzt wird, und dass darauf manche abweichende Ergebnisse bezüglich des Wachthums gewisser Bakterien zurückgeführt werden müssen".

Wie richtig diese Bemerkung Flügge's ist, zeigt die vorangehende Mittheilung. Es würde jedoch von geringer Bedeutung sein, wenn nichts als diese Angaben hierdurch bestätigt sein sollten. Vielmehr mache ich

---

1) Ich möchte auch an dieser Stelle Herrn Oberarzt Dr. Kossel meinen vorzüglichsten Dank aussprechen für die wiederholte und so liebenswürdige Unterstützung.

2) Zeitschrift für Hygiene. 1894. S. 274.

es mir nun zur Aufgabe festzustellen, ob und wie bestimmte Quantitäten Milch vollständig sterilisirt werden könnten, indem ich von der zuerst mitgetheilten Beobachtung ausging, dass geringere Mengen Milch nach bestimmter Behandlung schon steril waren, die grösseren aber nicht.

Die Resultate sind folgende:

Um Milch vollständig steril zu erhalten, müssen

1—10 ccm an 2 Tagen je 2 Stunden im Dampfkochtopf erhitzt werden,

50—200 ccm 3 Tage je 2 Stunden im Dampfkochtopf erhitzt werden,

300—500 ccm 4 Tage je 2 Stunden im Dampfkochtopf erhitzt werden.

In der Zwischenzeit ist es gut, die Milch bei einer Temperatur von nicht unter 20° zu halten. Die Gefässe, in welche die Milch — letztere in möglichst frischem Zustande — hineingebracht wird, müssen steril, ihre Form kann eine verschiedene sein. Auch Flügge hatte schon bemerkt, dass von einer grösseren Anzahl kleiner Proben, auf welche eine Milchportion vertheilt war, nur wenige verdarben — ein Zeichen, wie er hinzusetzt, dass solche Milch spärliche Sporen enthielt. Flügge nimmt also an, dass die Sterilisation im Dampfkochtopf abhängig ist von der Menge der Sporen, die jedesmal in der zu sterilisirenden Milch enthalten sind. Vielleicht ist es natürlicher, anzunehmen, dass die Hitze bei den geringeren Quantitäten leichter die Milch durchdringen kann als bei den grösseren Mengen, denn ich fand stets eine grosse Anzahl Röhrchen, die mit 10 ccm frischer Milch gefüllt waren und nach voriger Angabe behandelt steril, Gefässe dagegen, die mit derselben Milch — und zwar mit 50 ccm — gefüllt waren und genau so behandelt waren, nicht steril. Da das genaue Verhältniss der verschieden langen Dauer der Sterilisation zu der Menge der Milch ein so proportional constantes, so ist es doch nicht wahrscheinlich, dass die Heubacillen ihrer etwas grösseren Anzahl wegen das Feld siegreich behaupten, sondeswegen eben, weil die Hitze nicht so gleichmässig bei grösseren Mengen die ganze Milch durchdringen kann, wie bei geringeren.

Man kann also mit Hilfe des Dampfkochtopfes bestimmte Mengen Milch sterilisiren.

Es fragt sich ferner, ob man nicht, wenn man über die Temperatur des Dampfkochtopfes hinausgeht, d. h. über 100° in einfacherer und vielleicht schnellerer Weise Milch steril erhält.

Nun ist eine Publication von Dr. Bardach[1]) unter Leitung von E. Salkowski erschienen über die Gerinnung erhitzter Milch, worin Verf. u. A. nach-

1) Sitzungsberichte der Wiener Akademie der Wissensch. Bd. 106. Abth. IIb. April 1897.

weist, dass Milch beim Erhitzen von 120° schon in $1^1/_2$ Stunden zur Gerinnung gebracht wird, bei 110° in 5 Stunden, bei 130° in 1 Stunde. Man müsste also innerhalb dieser Grenzen bleiben, um Milch, ohne dass sie zur Gerinnung kommt, zu sterilisiren. Mir ist es nun gelungen, 500 ccm Milch bei 110° in einer Zeit von 1 Stunde steril zu erhalten. Bei welchem niedrigsten Temperaturgrad man die Milch noch steril erhalten kann, und innerhalb welcher Zeit, ob ferner auch hier verschiedene Mengen verschieden lange Zeit beanspruchen, über diese Fragen stehen die Untersuchungen noch aus. Es würde wohl von dem eigentlichen Thema zu weit abführen, wenn auch diese Fragen hier erledigt werden sollten. Es ist aber wohl als ganz sicher anzusehen, dass die ganze Kunst, in kurzer Zeit die Milch vollständig zu sterilisiren, darin besteht, dass man über die Temperatur von 100° hinausgeht, wie es wohl auch heute von denjenigen Fabriken, die die Milch vollssändig steril liefern gemacht wird. Ich möchte mich daher begnügen mitgetheilt zu haben, dass man einerseits im Dampfkochtopf, dessen Temperatur nicht über 100° geht, bestimmte Mengen Milch in bestimmten Zeiten mit gewissen Intervallen vollständig sterilisiren kann, und andererseits bei einer höheren Temperatur, 100°, Milch steril erhalten kann, als in weit kürzerer Zeit — Mittheilungen, die vielleicht nicht ohne Werth sind, da die Anschauungen über die Sterilisation noch so getheilt, dass mir selbst von einem hervorragenden Bakteriologen der Rath gegeben wurde, Milch mindestens 1 Stunde bei 130° zu erhitzen, um sie steril zu erhalten, was sich auf Grund der von Bardach[1]) angegebenen Untersuchungen, wonach eben in einer Stunde bei 130° erhitzte Milch vollständig gerinnt, von selbst ausschliesst.

Wenn ich noch kurz auf die praktische Seite dieser Frage eingehe, so steht heute die Sterilisation mit dem Soxhlet'schen Apparat im Vordergrunde des Interesses. Wenn nun einerseits schon lange durch Flügge's Untersuchungen (Zeitschrift für Hygiene 94, S. 272) festgestellt worden, dass der Soxhlet'sche Apparat die Milch nicht vollständig steril macht, und wenn andererseits behauptet worden, dass Kinder, die durch Soxhlet's Apparat sterilisirte Milch erhalten, Symptome der Barlow'schen Krankheit zeigten[2]), Symptome, die bei sofortiger Ernährung mit gekochter Milch verschwanden, so könnte man hieraus den Schluss ziehen, dass entweder die Milch durch die Sterilisation im Soxhlet so verändert wird, dass sie kein gutes Nährmittel ist oder aber, dass die noch in der Milch trotz der Sterilisation bleibenden Bakterien (Heubacillen) infolge ihrer starken und schnellen Entwickelung schädlich auf den kindlichen Orga-

---

1) Sitzungsberichte der Wiener Akademie der Wissensch. Bd. 106. Abth. IIb. April 1897.

2) V. Stark, Münchener med. Wochenschrift. 1896. No. 6. S. 126.

nismus wirken. Die letztere Frage könnte vielleicht dadurch entschieden werden, dass man Kinder mit Milch ernährt, die im Autoclaven sterilisirt ist, d. h. mit vollständig steriler Milch. Ruft auch die Ernährung mit dieser Milch dieselben Erscheinungen hervor, wie die mit Soxhlet's Apparat sterilisirte, dann dürfte man wohl im Allgemeinen wieder auf das einfache Aufkochen der Milch zurückkommen. Im anderen Falle dagegen würde wohl zur Sterilisation der Milch ein geeigneter Apparat (Autoclave), der eine Temperatur über 100° hat, nothwendig den Soxhlet ersetzen müssen.

Was nun die eigentliche Aufgabe dieser Arbeit betrifft, so müsste sie genau überschrieben werden. „Ueber das Verhalten der Diphtheriebacillen in der sterilen Milch und in Milch, die bereits mit Heubacillen inficirt war, — Heubacillen, die nach genauerer Untersuchung identisch sind mit der von Flügge unter No. 12 in seiner Arbeit angegebenen. Denn ich habe, um die ersten Versuche, in denen bei Impfung mit Diphtheriebacillen die Milch nicht steril war, nicht ganz ausfallen zu lassen, sie mit den Resultaten, die aus mit Diphtheriebacillen beschickter vollständig steriler Milch sich ergaben, in Parallele gestellt und dann noch Controlversuche gemacht, d. h. die Veränderungen erforscht, die diese Heubacillen an und für sich in der Milch hervorrufen. Ich habe also bei allen Untersuchungen dreierlei Objecte gehabt:

1. Milch, in der nur Diphtheriebacillen gewirkt hatten.
2. Milch, in der nur die Heubacillen gewirkt hatten.
3. Milch, in der Heubacillen und Diphtheriebacillen gemeinsam gewirkt hatten.

Alle diese drei Untersuchungen sind von zwei Gesichtspunkten ausgegangen:

I. Welches sind die durch die Bacillen hervorgerufenen Stoffwechselproducte in der Milch? — II. Die durch die Bacillen in der Milch hervorgerufene Toxinbildung.

Bevor ich nun an die erste Frage, „Welches sind die Stoffwechselproducte, die von den Diphtheriebacillen in der Milch hervorgebracht werden," gehe, sollen nur wenige Worte noch gesprochen werden über das Wachsthum der Diphteriebacillen. Auf Grund einer grösseren Reihe Einzelbeobachtungen, die erst durch eigene, theils durch Controlprüfungen Ellenhorst's gewonnen wurden, kommt Schottelius in der schon anfangs erwähnten Arbeit[1]) zu folgenden Ergebnissen:

Bei Zimmertemperatur stellt sich bereits nach sechs Stunden „die Zahl der entwickelunfähigen Diphtheriebacillen im Kubikcentimeter (die Platte zu 76 qcm gerechnet)

---

1) Ueber das Wasthum der Diphtheriebacillen in Milch. Centralblatt für Bakteriologie. XX. No. 25. S. 897.

in den der rohen Milch auf 21280000 Keime
in der sterilisirten Milch auf 228000 „
in der Bouilloncontrolle auf 760000 „

bei Bruttemperatur ebenfall nach sechs Stunden

in der rohen Milch auf 50160000 Keime
in sterilisirter Milch auf 6080000 „
in der Bouilloncontrolle 18240000 „

Meine eigenen Untersuchungen, die sich in dieser Frage, des Wachsthum der Diphteriebacillen betreffend, nur darauf beschränken, eine stärkere Vermehrung in der rohen, als in der sterilisirten Milch zu constatiren, wurden also von den genauen Ergebnissen von Schottelius in seiner inzwischen erschienenen Arbeit bestätigt.

Im Anschluss hieran möchte ich mir noch die praktische Bemerkung gestatten, dass man statt Bouillon auch Milch als Nährboden für Diphtheriebacillen in Laboratorien benutzen konnte, zumal wie ich noch später zeigen werde, auch hier eine Toxinbildung stattfindet.

Ich komme nun zu der ersten Frage:

I. Welches sind die durch den Diphtheriebacillus in der Milch hervorgerufenen Stoffwechselproducte?

a) In der sterilen Milch.
b) In der mit Heubacillen inficirten Milch.

Bei der Bearbeitung dieser Frage musste ich mich beschränken auf den Nachweis derjenigen Stoffe, die bisher als bekannte Stoffwechselproducte der Bakterien in der Milch gelten und für welche bereits ein methodischer Nachweis einwandsfrei geführt werden kann. Hierbei kommt in Betracht:

1. die Zersetzung der Kohlenhydrate
2. die Umwandlung des Eiweissmoleküls und zwar:
   a. eine Hydratisierung desselben d. h. eine Peptonisirung.
   b. eine Zersetzung.

Die Producte der Zersetzung der Kohlenhydrate sind: Alkohol, Aldehyd und flüchtige Säuren[1]) eventuell auch nicht flüchtige.

Die Producte der Hydratisierung des Eiweissmoleküls sind: die Peptone (hier im weiteren Sinne gebraucht).

---

1) Ich stütze mich hierbei auf die Arbeit Blumenthal's, der nachgewiesen hat, dass die flüchtigen Säuren aus den Kohlehydraten stammen. Ueber den Ursprung der nicht flüchtigen Säuren ist Blumenthal der Ansicht, dass auch sie „vorzugsweise“ aus den Kohlehydraten. d. h. also hier aus dem Milchzucker stammen.

Was die Producte der Zersetzung des Eiweissmoleküls betrifft, so unterscheiden wir nach E. und H. Salkowski und Neucki drei aromatische Gruppen im Eiweissmolekül, welche bei völliger Zersetzung desselben unter geeigneten Bedingungen frei werden können.

a. Die Phenolgruppe; hierzu gehören die beiden aromatischen Oxysäuren (und Krenol).

b. Die Phenylgruppe, hierzu gehörte die Phenylessigsäure und Phenylpropinsäure.

c. Die Indolgruppe: Indol und Skatol.

Die Methoden nun, die angewandt wurden, um diese genannten Zersetzungsproducte der Kohlenhydrate und des Eiweissmolecüls zu prüfen, und die von Professor Salkowski angegeben und von Blumenthal weiter ausgeführt ist, war folgende[1]):

Es wurde bei allen Versuchen stets so verfahren, dass mehrere Kolben mit 500 ccm Milch Inhalt sterilisirt und dann mit Diphtheriebacillen einer vollvirulenten Cultur beschickt wurden, die ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Kossel verdanke, und diese nun 2—3 Wochen im Brutschrank sich selbst überlassen. Darauf wurden die Kolben behufs genauer Feststellung ihrer ursprünglichen Sterilität auf verschiedene Nährböden abgeimpt, zugleich unter Anfertigung von Abstrichpräparaten. Diejenigen Kolben, die 2 Stunden an 2 Tagen sterilisirt waren, zeigten neben den Diphtheriebacillen die vorhin genannten Heubacillen, die nach Untersuchung wohl unter den von Flügge angegebenen zu No. XII. zu rechnen sind. In denjenigen Kolben jedoch, die nach der anfangs festgestellten Methode in diesem Falle also 4mal je 2 Stunden an 4 Tagen hintereinander sterilisirt waren, fanden sich nur Diphtheriebacillen.

Sodann wurden in allen Fällen die Kolben mit einigen Tropfen Chloroform zum Abtödten der Bacillen versetzt und nach 24 Stunden die zersetzte Milch durch Leinwand von dem Casein abfiltrirt. Das Filtrat wurde bei nicht alkalischer Reaction mit Na_2CO_3 schwach alkalisirt — destillirt, dann mehrmals auf sein ursprüngliches Volumen gebracht und von neuem destillirt (bis das Destillat keine Jodoformreaction mehr gab). [2])

Dieses erste Destillat wurde verwandt zur Prüfung auf Alkohol, Aldehyd, Indol und Phenol. Der Rückstand wurde bis zur stark sauren Reaction mit verdünnter Schwefelsäure versetzt und von neuem destillirt, und auch hier wurde mit Wasser wieder nachgefüllt und destillirt, bis das Destillat bei seinem Uebergange blaues Lakmuspapier nicht mehr roth färbte, bis also die flüchtigen Säuren ins Destillat übergegangen waren.

Dieses zweite Destillat wurde verwandt zur Prüfung auf die Menge der flüchtigen Säuren. Der jetzige Rückstand wurde im Schütteltrichter mit dem gleichen Volumen Aether versetzt und ausgeschüttelt und dies mehrmals wiederholt. Der Aether wurde dann abgehoben und wiederum destillirt.

Dieser Rückstand endlich wurde, nachdem er in H_2O gelöst, event. bis zur Lösung erhitzt und diese Lösung filtrirt, nachdem ferner das Wasser verdampft und

---

1) Die Methode die zum Nachweis der Hydratisirung der Eiweissmoleküle, d. h. Peptonisirung zur Anwendung kam, wird später noch speciell angegeben werden.

2) Conf. Blumenthal, Die Producte der bakteriellen Zersetzung der Milch. Virchow's Archiv. Bd. 95. S. 68.

nochmals mit Aether extrahirt und wieder filtrirt und verdampft ward, um die vorhandenen Schmieren ganz auszufällen, verwandt zur Prüfung auf Oxysäuren, Skatolcarbonsäure, Bernsteinsäure und Milchsäure.

Die Reactionen, die zum Nachweis der einzelnen Producte der Zersetzung zur Anwendung kamen, waren folgende:

Der Alkohol wurde als Jodoform nachgewiesen.

Aldehyd mit der Legal'schen Probe.

Das Indol durch die sog. Cholerareaction, d. i. 0,02 pCt. Kaliumnitrit + concentrirter H_2SO_4.

das Phenol durch Salzsäure und Bromwasser.

Die Menge der flüchtigen Säuren wurde bestimmt, indem dieselben mit Halbnormallauge titrirt wurden.

Die Oxysäuren wurden mit dem Millon'schen Reagens und durch Bromwasser nachzuweisen versucht.

Auf Skatolcarbonsäure wurde durch Eisenchlorid event. mit Nitroprussidnatrium in der von Salkowski[1]) angegebenen Weise geprüft.

Die Milchsäure wurde mit der Uffelmann'schen Probe nachzuweisen versucht und im positiven Ausfall der Reaction das Zinksalz (milchsaures Zink) darzustellen versucht.

Zur Prüfung der Bernsteinsäure kam die Hustenreaction und die Probe mit neutralem Bleiacetat in Betracht. Bei eventuellem Vorhandensein der Milchsäure und Bernsteinsäure konnte zur Trennung und genauen Feststellung besonders der letzteren leider nicht die von Blumenthal angegebene Bestimmung mehr vorgenommen werden, weil die übrig bleibende Menge des Rückstandes stets eine zu geringe war. Blumenthal räth selbst hiervon Abstand zu nehmen,[2]) falls nicht genügend Bernsteinsäure vorhanden ist, da bei zu geringer Menge grössere Verluste bei der Verarbeitung stattfinden.

Versuche.

A) mit Reincultur von Diphtheriebacillen
   1. 500 ccm Milch, steril, Dauer der Zersetzung 2 Wochen. Temp. 37°.
   2. 500 ccm Milch, steril, Dauer der Zerzetzung 3 Wochen. Temp. 37°.

B) mit Diphtheriebacillen bei Anwesenheit von Heubacillen
   1. 500 ccm Milch, Dauer der Zersetzung 2 Tage. Temp. 37°.
   2. 500 ccm Milch, Dauer der Zersetzung 10 Tage. Temp. 37°.
   3. 500 ccm Milch, Dauer der Zersetzung $2^1/_2$ Wochen. Temp. 37°.

Controllversuch:

500 ccm Milch bei Anwesenheit von Heubacillen, 2 Wochen. Temp. 37°.

(s. die folgende Tabelle.)

Bei dem Versuch, aus diesen Befunden zu resumiren, kann zunächst wohl als sicher hingestellt werden, dass der Diphtheriebacillus in der sterilen Milch eine Zersetzung der Kohlehydrate bewirkt, deren Producte Alkohol, Aldehyd und flüchtige Säuren sind. Was nun die nicht flüchtigen Säuren anbetrifft, deren Anwesenheit ein Vorkommen entweder der Milchsäure oder der Bernsteinsäure oder endlich beider

---

1) E. Salkowski, Zeitschrift für physiol. Chemie. Bd. XII. H. 1.
2) F. Blumenthal, Virchow's Archiv. 1895.

	Producte der Zersetzung der Kohlehydrate.			Producte?		Producte der Eiweisszersetzung.			
	Alkohol.	Aldehyd	Menge der flüchtigen Säuren (bei $\frac{1}{2}$ NaOCl)	Milchsäure.	Bernsteinsäure.	Indol.	Phenol.	Oxysäuren.	Skatolcarbonsäure.
Befunde der Versuche A.									
1	positiv	positiv	37.5	?	negativ (?)	negativ	negativ	negativ	negativ
2	positiv	positiv	31,1	?	(?)	negativ	negativ	negativ	negativ
Befunde der Versuche B.									
1	positiv	positiv	20,4	negativ	Spuren (?)	negativ	negativ	positiv	negativ
2	positiv	positiv	18,7	negativ	?	negativ	negativ	positiv	negativ
3	positiv	positiv	26,4	negativ	Spuren (?)	negativ	negativ	positiv	negativ
Controllversuch.									
	positiv	positiv	12,1	?	?	negativ	negativ	negativ	negativ

Säuren bedingen kann, so konnte in dieser Frage, bei den Versuchen A, die Anwesenheit von Milchsäure nicht ausgeschlossen werden. Das milchsaure Zinksalz darzustellen gelang nicht mehr, wegen der in Folge der Verlustmenge sehr gering gewordenen Quantität, was ja allein die Frage sicher entschieden hätte. Immerhin gab die Uffelmann'sche Reaction einen mehr positiven als negativen Ausschlag.

In den Versuchen B, in welchen die Diphtheriebacillen mit den Heubacillen vereint auf die Milch gewirkt hatten, konnte durch das stete negative Ausfallen der Uffelmann'schen Reaction das Vorhandensein der Milchsäure ausgeschlossen werden, desgleichen in einem Versuch, in dem die Heubacillen die Milchzersetzung bewirkten.

Das Vorkommen der Bernsteinsäure ist noch schwerer festzustellen gewesen. Der Nachweis der Bernsteinsäure ist durch ihre Schmelzung auf dem Platinblech in der Entwickelung zum Husten reizender Dämpfe, durch die Probe mit neutralem Bleiacetat und durch den Schmelzpunkt von etwa 180° zu führen.

Was den ersten Punkt betrifft, so ist derselbe wohl nur bei Anwesenheit auch der anderen Reactionen als ein schliessendes Glied in der übrigen Reihe der beweisenden Factoren zu betrachten. Denn an und für sich machen eingeathmete Dämpfe nicht selten einen leichten Hustenreiz. Wichtiger ist die zweite Reaction, die aber auch oft nicht

nach der positiven oder negativen Seite hin, besonders in zweifelhaften Fällen, genauen Aufschluss giebt. Das entscheidende Moment für den positiven Nachweis der Bernsteinsäure ist der Schmelzpunkt, der leider aus dem vorher schon erwähnten äusseren Grunde in keinem Falle untersucht werden konnte. Und so war es nicht möglich, auch nur in einem Falle das bestimmte Vorhandensein der Bernsteinsäure anzugeben, aber sie auch bei keinem Versuch als sicher auszuschliessen.

Bei den Versuchen A, d. h. bei Einwirkung der Diphtheriebacillen auf steriler Milch, war nach den beiden ersten Reactionen der Ausfall im ersten Versuch eher negativ als positiv, im zweiten ganz zweifelhaft. Bei den Versuchen B in zwei Fällen eher als positiv zu bezeichnen, im dritten Falle wieder ganz unsicher, desgleichen bei dem Controlversuch.

Wenn also aus diesen Berichten ein Wahrscheinlichkeitsresultat abgeleitet werden kann, so ist zunächst anzunehmen, dass in der Milch, in welcher Diphtheriebacillen und Heubacillen vereint gewirkt haben, vielleicht Bernsteinsäure sich gebildet, und — was nach dem stetigen Ausfall der Reactionen als sicher angesehen werden kann — Milchsäurebildung nicht stattgehabt hat, dass ferner in der Milch, in der der Diphtheriebacillus allein die Gährung hervorgerufen, derselbe Milchsäure vielleicht producirt, sei es nun unter gleichzeitiger Bildung von Bernsteinsäure, sei es ohne dieselbe.

Blumenthal hat das Verdienst, zuerst die Anwesenheit von Bernsteinsäure in Milch in seiner schon oft citirten Arbeit nachgewiesen zu haben. „Die Bernsteinsäuregährung, sagt Blumenthal, ist eine sehr verbreitete in der Milch vorkommende Zersetzungsart". Blumenthal fand in der Milch eine reine Milchsäuregährung nur beim Impfen mit dem Hüppe'schen Milchsäurebacillus. In der Mehrzahl seiner Untersuchungen fand er keine Milchsäure, dagegen Bernsteinsäure.

Wenn auch in der von Diphtheriebacillen und Heubacillen zersetzten Milch keine Milchsäuregährung auftrat, so ist doch bei Einwirkung der Diphtheriebacillen auf steriler Milch die Milchsäure auch als Product der Zersetzung bei meinen Versuchen nicht von der Hand zu weisen.

Bevor ich noch mit einigen Worten auf die Frage der Herleitung der Milchsäure und Bernsteinsäure eingehe, ob sie in der Milch ein Product sind des Eiweisses oder des Milchzuckers, sollen zuvörderst die als sicher geltenden Producte der Eiweisszersetzung (s. vorher) kurz besprochen werden.

Von der Indolgruppe (Indol und Skatol) war in keinem Falle ein Product nachweisbar, desgleichen von der Phenylgruppe, (soweit hier Untersuchungen gemacht wurden).

Von der ersten Gruppe endlich, der Phenylgruppe, zu welcher die aromatischen Oxysäuren und das aus ihnen hervorgehende Phenol gerechnet werden, ist die Anwesenheit des Phenol nach den Resultaten

stets auszuschliessen. Auch die Oxysäuren, die erste sich abspaltende Substanz des Eiweissmoleküls, konnten bei der Zersetzung der sterilen Milch durch die Diphtheriebacillen ausgeschlossen werden. Dagegen fanden sich zweimal Oxysäuren unter drei Versuchen bei denen Diphtherie- und Heubacillen zusammen gewirkt hatten, in einem der beiden Fälle sogar eine nicht unerhebliche Menge und zwar 0,15 g Hydroparamarsäure (vom Schm. 124°). — In dem Controllversuch, wo die Heubacillen allein die Milchzersetzung bedingt hatten, waren keine Oxysäuren vorhanden.

Es wäre damit erwiesen, dass die Diphtheriebacillen in der sterilen Milch keine Eiweisszersetzung hervorrufen. Dies stimmt ganz überein mit den von Blumenthal angegebenen Resultaten, die er zusammenfasst in den Worten: „dass eine Eiweisszersetzung in der Milch zwar möglich, in der Regel aber nicht stattfindet, weil“ (conf. seine Arbeit), wie er nach seinen Versuchen annimmt, „die Zersetzung der Milch sistirt, ehe es zur vollkommenen Vergährung des Milchzuckers kommt“. Blumenthal hat letzteres bewiesen dadurch, dass die Zersetzungsproducte des Eiweisses, Indol, Spatol, Phenol etc., erst dann in der Milch entstanden, nachdem sämmtlicher Milchzucker vergohren ist. Trotz dieses sicheren Beweises ist es aber doch nicht ausgeschlossen, was Blumenthal auch zugiebt, indem er sagt „in der Regel“, dass eine, wenn auch geringe, Eiweisszersetzung stattfinden kann. Blumenthal hat selbst bei zwei Versuchen Oxysäuren gefunden. Wenn auch ich nur in zwei Fällen der Versuchsreihe B, also in Milch, die der Diphtheriebacillus im Verein mit dem Heubacillus zersetzt hatte, Oxysäuren gefunden habe, so spricht das wohl dafür, dass unter bestimmten Bedingungen eine Eiweisszersetzung auch ohne vollständige Milchzuckerverzehrung statthaben kann.

Diese Bedingungen konnten einmal in der Virulenz und Eigenart des Diphtheriebacillus enthalten sein. Vielleicht, dass der Diphtheriebacillus eine von den übrigen Bakterien (die z. B. Blumenthal untersucht hat (Typhusbacillen, Cholerabacillen etc.), verschiedene Einwirkung auf die Milch hat. Dagegen spricht nun, dass in Milch, welche die Diphtheriebacillen allein zersetzt hatten, keine Oxysäuren enthalten waren. Wenn also der Diphtheriebacillus an sich keine Oxysäuren bietet, d. h. also keine Eiweisszersetzung in der Milch eingeht, so müssen die Vorbedingungen für dieselbe wohl in dem gemeinsamen Wirken der beiden Bakterien liegen. Der Heubacillus allein bringt auch keine Bildung von Oxysäuren in der Milch hervor (vergl. Controllversuch). Wir wissen aber von ihm besonders durch Flügge und Lübbert, dass er Pepton bildet, — ich werde später darauf noch zurückkommen — und zwar erhebliche Mengen. Es wäre also nicht schwer verständlich, dass der Diphtheriebacillus, nachdem eine Peptonisirung, d. h. eine Umwandlung des Ei-

weissmoleküls bereits durch den Heubacillus stattgefunden, nun sich leichter, wenn ich so sagen darf, an die Zersetzung des Eiweissmoleküls heranwagt. — Vielleicht, dass auch die alkalische Wirkung des Heubacillus neutralisirend auf die entstehenden Säuren einwirkt und so die Entwickelung und Virulenz des Diphtherirbacillus selbs erhöht. Für die Toxinbildung des Diphtheriebacillus habe ich den Einfluss der Alkalescenz nachgewiesen und so glaube ich auch, dass die Virulenz des Bacillus durch directe Neutralisirung mit $Na_2 CO_3$ etc. erhöht werde. Sichere Beweise für diese letztere Behauptung fehlen jedoch noch.

Als sicher kann also hingestellt werden, dass gewöhnlich der Diphtheriebacillus in sterilisirter Milch keine Eiweisszersetzung hervorruft.

An dieses Resultat möchte ich gleich die Frage nach der Entstehung der Milchsäure in der Milch anknüpfen, Blumenthal giebt an, dass sich die Milchsäure in der Milch nicht aus dem Casein bildet. Er begründet diese Angabe durch den Versuch, in welchem er aus Casein nur Bernsteinsäure gewann und bestätigt damit die Annahme Salkowski's[1]), dass nur von lebendem Eiweis Milchsäure gebildet wird und nicht bei der bakteritischen Zersetzung der Eiweisskörper. Hierfür lässt sich auch sehr gut anführen, dass bisher in einigen derjenigen Fällen, in denen keine Oxysäure oder sonstige Eiweisszersetzungsproducte gefunden wurden, also überhaupt das Eiweissmolekül nicht angegriffen war, dennoch Milchsäure gefunden ist. Bei der Durchsicht der von Blumenthal angegebenen Versuche hat sich in zwei Fällen Milchsäure ergeben (durch Darstellung von milchsaurem Zinkoxyd) und keine Oxysäuren. Und gleichfalls kann die (nicht sicher nachgewiesene) Milchsäure in denjenigen meiner Versuche, in welchen der Diphtheriebacillus die Zersetzung bewirkt hatte, nur aus dem Milchzucker stammen, da ein sicherer Nachweis geführt worden, dass keine Eiweisszersetzung hierbei stattgehabt und da in den Versuchen, wo Milchsäure gefunden worden, das Vorhandensein von Milchsäure ausgeschlossen werden konnte. Nicht ganz so sicher ist es, die Entstehung der Bernsteinsäure bei meinen Versuchen aus dem Milchzucker herzuleiten, denn der Nachweis derselben war nicht sicher als ein negativer zu bezeichnen auch in den Versuchen, in denen sich Oxysäuren fanden, in denen also das Eiweissmolekül bereits angegriffen war. Auch Blumenthal hat Bernsteinsäure zugleich mit Oxysäuren gefunden. Immerhin ist in der Mehrzahl der von Blumenthal angeführten Fälle bei sicherem Nachweis der Bernsteinsäure keine Eiweisszersetzung eingetreten, so dass also auch hier die Bernsteinsäuregährung ein Product des Milchzuckers sein muss.

---

1) Autodigertion der Organe. Jubelband für v. Leyden's Jubiläum. Zeitschrift für klin. Medicin.

Ich habe daher auch in der Tabelle die Milchsäure und Bernsteinsäure als ein Product der Kohlehydrate in der Milch, d. h. des Milchzuckers angegeben. Dass aber auch die Bernsteinsäure eines der vornehmsten Producte der bakteriellen Eiweisszersetzung ist, wurde durch zahlreiche Arbeiten E. und H. Salkowski's[1]), Blumenthal's[2]) u. A. dargethan.

Nachdem nun also als bewiesen gelten darf, dass der Diphtheriebacillus eine Milchzuckergährung eingeht, aber an sich keine Eiweisszersetzung in der Milch hervorruft (vielleicht nur unter ganz bestimmten Umständen), bleibt noch der Punkt zu berücksichtigen, ob auch keine Hydratisirung des Eiweissmoleküls d. h. Peptonisirung (dieses Wort im weiten Sinne gebraucht) durch ihn in der Milch statthat.

Um auf diese Veränderung des Eiweisses in der Milch, d. h. des Caseins zu examiniren, nahm ich eine Probe der von dem Casein bereits filtrirten Milch ab, fällte durch Kochen und Zusatz einiger Tropfen Essigsäure das noch eventuell vorhandene Eiweiss und stellte an dem Filtrat dieser Probe die Biuretreaction an. Bekanntlich soll der positive Ausfall dieser Reaction auf die Anwesenheit von Pepton (Pepton hier im weiteren Sinne gebraucht, also auch für primäre und secundäre Albumosen) schliessen lassen und umgekehrt.

Ich erhielt einige Male positiven, in anderen Fällen negativen Ausfall der Reactionen.

Bei diesen unsicheren Resultaten war es wohl das Beste, diese Versuche mit der von Hofmeister angeführten und dann durch Salkowski[3]) vereinfachten Methode zu wiederholen. Und mit dieser Methode (dieselbe wird unten noch genau angegeben) gelang es, stets eine schwache aber deutliche Biuretreaction zu erlangen. Aus diesem positiven Ausfall allein konnte daher auch noch kein Schluss gezogen werden, da es bereits von verschiedenen Autoren (Blasius und Bekurz)[4]) behauptet ist, dass bereits in der sterilisirten Milch durch den Vorgang der Sterilisation Pepton entsteht. Um also sicher zu gehen, dass das Pepton, das ich nach der Einwirkung von Diphtheriebacillen in der Milch gefunden, nicht schon bei der Sterilisation der Milch entstanden war, musste erst sterilisirte Milch geprüft werden und um diese auf Pepton zu prüfen, musste auch erst der Beweis des Nichtvorhandenseins von Pepton in der rohen Milch erbracht werden. Um also zunächst zu untersuchen, ob in der sterilisirten Milch Pepton sich vorfindet, ging ich in folgender Weise vor:

---

1) E. u. H. Salkowski, Berichte der deutschen chem. Gesellschaft. Bd. X. u. XI.

2) F. Blumenthal, Virchow's Archiv. Bd. 137. 1894.

3) Centralblatt für die med. Wissenschaften. 1894. No. 7.

4) Vierteljahrsschrift für öffentliche Gesundheitspflege. Bd. 27. H. 3. S. 327.

Es wurden 3 Kolben mit 200 ccm ganz frischer Milch versetzt. Von diesen 3 Kolben wurde einer sofort auf Pepton untersucht. Der zweite Kolben wurde sofort 2 Stunden im Dampfkochtopf sterilisirt und dann verarbeitet, und der dritte Kolben würde zugleich mit dem zweiten 2 Stunden im strömenden Dampf gehalten und nach einem Intervall von 20 Stunden (bei einer Temperatur von 15° aufbewahrt) noch einmal 2 Stunden sterilisirt, um dann gleichfalls auf Pepton geprüft zu werden.

Auf den Rath des Herrn Prof. Salkowski schlug ich folgenden Weg ein:

Zu diesen 200 ccm Milch wurden 150 ccm Aqua hinzugesetzt, dann das Casein durch Essigsäure ausgefällt und bis auf 400 ccm mit Wasser aufgefällt. Diese Quantität (400 ccm) wurde von dem Casein filtrirt und zwar so, dass 300 ccm abfiltrirt wurden. Jetzt wurde das Alb. durch langes Kochen ausgefällt und die verdampfte Flüssigkeit ersetzt, so dass 300 ccm Inhalt wieder vorhanden war und nun wurde nochmals filtrirt, bis das Filtrat 200 ccm betrug. Diese Menge wurde bis auf 50 ccm eingedampft zur vollständigen Fällung des Albumins und zur Concentration der Flüssigkeit, von neuem filtrirt und das jetzt erhaltene klare Filtrat nach der von Hofmeister und Salkowski[1]) für den Harn angegebenen Methode in folgender Weise auf Pepton untersucht. (Es muss hierbei noch erwähnt werden, dass manchmal infolge vielleicht zu starken Zersetzens von Essigsäure das Albumen nicht ganz ausfällt. Es muss daher stets noch die Reaction vor dem Eindampfen geprüft werden und bei stark saurer Reaction eventuell etwas NaOH zugesetzt werden.)

10 ccm dieses Filtrats wurden im Reagensglase mit einigen Tropfen Salzsäure angesauert, mit Phosphorwolframsäure gefällt, alsdann erhitzt. Beim Erhitzen zog sich dann der Niederschlag zusammen zu einer am Boden des Glases haftenden harzartigen Masse. Sobald dies geschehen, wurde die überstehende, fast ganz klare Flüssigkeit so vollständig wie möglich abgegossen und die harzige, bröcklig werdende Masse zweimal mit destillirtem Wasser abgespült, was — wie Salkowski schon sagt — bei genügender Vorsicht ohne Substanzverlust ausgeführt werden konnte, dann wurde wieder etwas Wasser (8 ccm) zugesetzt und einige Tropfen Natronlauge (etwa 1,16 spec. Gew.). Der Niederschlag wurde dann durch einiges Hin- und Herschwenken des Röhrchens aufgelöst. Die eventuell hierbei auftretende blaue Färbung wurde durch Erwärmung in eine graugelbe umgewandelt. Nachdem das Reagensglas wieder erkaltet, wurde unter Umschütteln 1—2proc. Kupfersulfatlösung tropfenweise hinzugesetzt. Bei Gegenwart von Pepton musste sich nun die Flüssigkeit roth färben und zwar musste sich die Intensität der Farbe genau proportional verhalten zu der Menge des eventuell vorhandenen Peptons.

Es zeigte sich nun die auffällige Thatsache, dass in der rohen Milch Peptone vorhanden waren, denn es trat eine schwache aber deutliche Reaction ein, es zeigte sich ferner, dass bei der Sterilisation keine wesentliche Vermehrung des schon vorhandenen Peptons stattgefunden hatte. Denn die Untersuchung der beiden auf verschiedene Weise sterilisirten Milch gab genau die gleiche Reaction von derselben Intensität der Farbe, wie bei der Probe, die der rohen Milch entnommen war. Wenn ich hieraus einen Schluss ziehen darf, so ergiebt sich also, dass bereits in der rohen Milch Peptone (Pepton auch hier im weiteren

1) Centralblatt für die med. Wissenschaften. 1894. No. 7.

Sinne für primäre und secundäre Albumosen gebraucht) vorhanden sind,[1]) und dass durch die Sterilisation der Milch keine wesentlich stärkere Bildung der Peptone statthat.

Vergleiche ich diese meine Resultate mit den bisherigen Angaben in der Literatur, so habe ich, soweit mir letztere zugängig geworden, nur eine Angabe gefunden, wo bereits ein Befund von Pepton in roher Milch angegeben worden ist, und zwar im Maly'schen Jahresbericht für Thier-Chemie, im 14. Band, 1885, in einem Referate (das Herr Dr. J. Biel aus St. Petersburg der Redaction zugesandt hatte, ohne Angabe, wo die Originalabhandlung sich befindet). J. Schmidt hat nach diesem Referat in seiner Schrift: „Materialien zur Erklärung der besonderen Eigenthümlichkeiten der Frauen- und Kuhmilch" angegeben, dass er Spuren von Pepton in der Frauenmilch wie in der Kuhmilch gefunden habe und zwar durch Dialyse. Verfasser giebt sogar die genauen Zahlen an über die Menge der verschiedenen in der Milch auftretenden Substanzen. Diese Zahlen, die durch Differenz bestimmt sind, dürften dennoch heute nicht mehr stichhaltig sein. Auch sonst ist ein Vergleichen der Resultate sehr schwierig, da das Original nicht zu erhalten war. Das Auftreten der Biuretreaction wäre wohl als positiver Nachweis für Pepton in der Milch zu bezeichnen, wenn Verf. nicht die Milch, wenn auch in verändertem Zustande, 3 Tage stehen gelassen hätte. Dann können ja bereits die Heubacillen ihre Wirkung gethan und das Albumin in Pepton verwandelt haben.

Was nun das Pepton in sterilisirter Milch anbetrifft, so ist schon wiederholentlich betont worden, dass bei der Sterilisation Pepton entsteht. Blasius und Behnicke[1]) gehen sogar so weit, zu behaupten, dass bei der Sterilisation der Milch die Hauptveränderung darin besteht, dass das Albumin vollständig verschwunden ist; es ist in Pepton übergegangen. — Dem gegenüber muss nun zunächst festgestellt werden, dass Pepton, wie nachgewiesen, in nicht ganz unerheblicher Menge in der rohen Milch bereits vorhanden und dass durch die Sterilisation (zwei Stunden in strömendem Dampf) keine wesentliche Peptonisirung statthat, da die Reaction für die rohe Milch wie für die sterilisirte Milch genau denselben Farbenton zeigte. Zur Controlle und zum Beweise der Richtigkeit dieser Angabe mag noch angeführt werden die Veränderung, die die Milch erleidet, sobald man sie einige Tage oder gar Wochen, nachdem sie 2 Stunden im strömenden Dampf sterilisirt war, im Brütschrank und auch ausserhalb desselben bei einer Temperatur von nicht

1) Natürlich muss diese Behauptung auf die angewandte Methode basirt werden, wobei die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass in der Milch leicht zersetzliche Eiweisskörper existiren können, welche bei diesem zum Nachweis angewandten Verfahren Pepton abspalten.

2) Vierteljahrsschrift für öffentl. Gesundheitspflege. Bd. 27. H. 3. S. 527.

unter 17° R. stehen lässt. Jetzt fangen nämlich die Heubacillen, die durch diese Art der Sterilisation, wie anfangs gezeigt worden, nicht abgetödtet werdez, zu wirken an, und zwar haben sie, wie schon Flügge und Lübbert gezeigt haben, in hohem Grade die Eigenschaft, Pepton zu bilden. Ich selbst habe genau in derselben Weise Untersuchungen bei solcher Milch, die nach Sterilisation im Dampfkochtopf mehrere Tage und mehrere Wochen im Brütschrank gestanden und habe ich dann stetig ausserordentliche Massen von Pepton gefunden. In einem Falle war sogar reines Pepton vorhanden und diese Reactionen waren von ganz anderem Farbenton, wie diejenigen, die ich bei roher und sterilisirter Milch gefunden hatte. Ja schon beim Fällen mit Phosphorwolframsäure (vergleiche vorher) erhielt ich, während sonst nur eine am Boden des Reagensglases sich zusammenziehende, geringe, harzige, bröcklige Masse auftrat, einen derartigen Niederschlag, dass das ganze Reagensglas mit dieser harzigen Masse durchsetzt war und nun erst noch eine bedeutende Verdünnung mit Wasser angestellt werden musste, bevor die Reaction gemacht werden konnte; dieselbe fiel dann stets tiefroth aus. Ob nun dieser Factor, d. h. die Heubacillen, bei den Resultaten von Blasius und Beckurtz eine Rolle gespielt haben, ist nicht zu bestimmen. Jedenfalls stimmen die Angaben, dass sämmtliches Albumin bei der Sterilisation der Milch in Pepton verwandelt sein soll, so wenig mit meinen Resultaten überein, dass sie ohne Weiteres nicht in Einklang damit gebracht werden können.

Wenn also nun als erwiesen angenommen werden darf, dass bereits in der Milch Pepton vorhanden, und als erwiesen, dass durch die Sterilisation derselben keine wesentliche Vermehrung dieser bereits vorhandenen Peptons auftritt, so ist nun die Frage, von der ich überhaupt ausging, und zu deren eigentlichen Beantwortung obige Untersuchungen erst angestellt werden mussten, zu erledigen: Verwandelt der Diphtheriebacillus das Eiweiss in der Milch in Pepton? Zu diesem Zweck habe ich gleiche Mengen steriler Milch und mit Diphteriebacillen geimpfter steriler Milch 8 Tage im Brutschrank stehen lassen, dann mittels Polarisation die Vergährung des Milchzuckers festzustelten gesucht, um auch sicher zu gehen, dass der Dipteriebacillus den Milchzucker zersetzt, d. h. überhaupt gewirkt hatte — es fanden sich in der sterilen Milch 3,6 pCt. Milchz. und in der mit Diphteribacillen beschickten Milch 2,0 pCt Milchz., in einem zweiten Falle 3,7 und 2,0 — und in genau gleichem Mengenverhältniss, wie vorhin angegeben, auf Pepton geprüft; es zeigte sich auch hier, dass die Reaction, die bei der sterilen Milch eintrat, genau denselben Farbenton hatte, wie bei der geimpften Milch, d. h. dass der Diphtheriebacillus kein Pepton producirt hatte. Es wurden diese Versuche zur Controle wiederholt. Es ist also damit gezeigt, dass der Diphtheriebacillus das Eiweiss in der Milch nicht zu Pepton umwandelt.

In der Literatur finde ich zu diesem Resultat in der schon oft citirten Arbeit Blumenthal's folgende Mittheilung:

„Von dem Filtrat (das erhalten war, nachdem die zersetzte Milch durch Leinewand von dem unzersetzten Caseïn abfiltrirt war) wurde eine Probe abgenommen, durch Erhitzen und Säurezusatz von dem Eiweiss befreit und an dem Filtrat die Biuretreaction angestellt, um zu sehen, ob eine Peptonisirung der Eiweisskörper eintritt. Sie war stets negativ. Eine Peptonisirung der Eiweisskörper fand also in der Milch durch die Zersetzung nicht statt."

Die vorangegangenen Untersuchungen haben nun bereits gezeigt, dass die einfache Biuretsaction nicht ausreicht für die Peptonuntersuchung. Schon an diesen verschiedenen Resultaten kann man ersehen, wie unzuverlässig die einfache Biuretreaction ist. Sie genügt nicht einmal für eine oberflächlich Untersuchung. Ist es doch mir selbst vorgekommen, dass in Milch, die mit Heubacillen durchsetzt war, die einfache Biuretreaction negativ ausfiel, während die von Hofmeister und Salkowski angegebene Methode das Vorhandensein einer ausserordentlichen Menge von Pepton bewies. Fällt aber die einfache Biuretreaction bereits positiv aus, so ist sie wohl für Pepton beweisend. Der negative Ausfall hat absolut keine Gültigkeit. Es darf daher auch nicht wundern, dass Blumenthal selbst bei spontaner Gerinnung von Milch Pepton nicht gefunden, wo doch sicher schon in Folge der Mitwirkung des Heubacillus eine grössere Menge von Pepton vorhanden gewesen. Denn thatsächlich finden wir bei der Untersuchung mit der genauen Methode (nach Hofmeister und Salkowski) die Biuretreaction positiv. Dieser Ausfall der Reaction beruht aber, wie gezeigt, zunächst auf dem Vorhandensein von Pepton in der rohen Milch, womit also gezeigt, dass durch den Diphtheriebacillus in steriler Milch keine wesentliche Peptonisirung statthat.

Es könnte hieran noch die praktische Frage geknüpft werden, ob dieses Pepton, das bereits in der rohen Milch vorkommt, schädigend auf den Organismus wirkte. Es ist über die Peptonfrage bereits so viel geschrieben und disputirt worden, dass es einer genauen Auseinandersetzung bedürfte, um diese Frage, wie die Antwort auch ausfallen möge, zu erörtern. Bei den ausserordentlich verschiedenen Anschauungen hierüber, die vielleicht in dem einen Punkt übereinstimmen, dass grössere Mengen Pepton, besonders für kleine Kinder und Säuglinge ausserordentlich schädlich sein können, dürfte vielleicht die durch vorige Untersuchungen bestimmt angegebene Thatsache, dass bereits in der rohen Milch Peptone vorkommen, als ein nicht zu unterschätzendes Moment dafür angeführt werden können, dass kleine Mengen Pepton keine besonderen Schädlichkeiten dem menschlichen Organismus im allgemeinen verursachen. Oder sollte etwa ein von der Natur dem Menschen

in seiner Entwickelung als einzige Nahrung gegebenes Mittel schon praedisponirend ein unserem Körper schädliches Agens enthalten?

Nachdem ich nun mit dieser kurzen praktischen Bemerkung an den Schluss meine Berichte über die durch den Diphtheriebacillus in der Milch herorgeerachten Stoffwechselproducte gelangt bin, möchte ich noch einmal bevor ich den zweiten wichtigen Punkt die durch den Diphtheriebacillus in der Milch hervorgerufene Toxinbildung herangehn, das Resumé des bisher Gesagten zusammenfassen.

I. Die durch den Diphtheriebacillus in Milch hervorgerufenen Stoffwechselproducte:

a) Der Diphtheriebacillus bringt in steriler Milch eine Gährung hervor.

1. Er zersetzt den Milchzucker unter Bildung von Alkohol, Aldehyd flüchtigen Säuren und nicht flüchtigen Säuren. Welcher Art letztere sind, ob Bernsteinsäure, ob Milchsäure, hat nicht festgestellt werden können. Durch die erhaltenen Productionen ist die Gegenwart einer der beiden Säuren nicht auszuschliessen gewesen.
2. Der Diphteriebacillus zersetzt in steriler Milch nicht das Casein.
3. Er greift das Eiweissmolecül überhaupt nicht an und findet durch sie also keine Umwandlung des Eiweisses in Pepton statt. —

b) In der mit Heubacillen inficirte Milch:

1. Ist das Product des Diphtheriebacillus und Heubacillus gleichfalls die Zersetzung des Milchzückers unter Bildung von Alkohol, Aldehyd, flüssigen und nicht flüssigen Säuren. Unter den nicht flüssigen Säuren war hier die Milchsäure stets ausgeschlossen, im Gegensats zu dem ersten Resultat, die Bernsteinsäure nicht sicher nachzuweisen.
2. Es fanden sich hier ferner die ersten Producte der Caseinzersetzung „die Oxysäuren“ ohne vollständige Zersetzung des Milchzuckers, und eine ausserordentlich starke Umwandlung des Eiweisses in Pepton, was durch den Controlversuch nur auf Kosten des Heubacillus zu setzen ist.

II. Aus den Controlversuchen konnte folgendes Resultat gewonnen:

1. Die rohe Milch enthält prädisponirt eine geringe Menge von Pepton.
2. Es entsteht durch Kochen roher Milch oder zweistündiges Sterilisiren im Dampfkochtopf keine erhebliche Vermehrung von Pepton in der Milch. —

II. Die durch die Diphtheriebacillen in der Milch bewirkte Toxinbildung.

Wenn ich nun nach Feststellung der durch den Diphtheriebacillus in der Milch hervorgerufenen Stoffwechselprodukte an die zweite Frage meiner Aufgabe, über die durch diesen, dem Menschem so schädlichen Mikroorganismus bewirkte Toxinbildung in der Milch herangehe, so hat mich ausschliessich ein Gesichtspunkt hierbei geleitet.

Wird die Toxinbildung des Diphtheriebacillus in der Milch, wenn er eine solche giebt, durch eine höhere Alkalescenz derselben verändert?

Um diese Frage zu beantworten, wurden zunächst folgende Versuche angestellt:

Von 4 Kolben Milch mit 200 ccm Inhalt wurden 3 Kolben mit 10proc. Na_2CO_3 alkalisirt, und zwar 1 Kolben mit 1 ccm, der zweite mit 2 ccm und der dritte mit 3 ccm und dann sterilisirt. Alle 4 Kolben, sowohl der nicht alkalisirte als die drei verschieden alkalisirten wurden, nachdem sie mit Diphtheriebacillen einer Agarkultur beschickt waren, in den Brutschrank gesetzt und dort 8 Tage sich selbst überlassen.

Es mag gleich hier bemerkt werden, dass alle diese Kolben auf die zuerst angegebene Art sterilisirt wurden, dass also hier die Milch nicht vollständig steril war, sondern gleichfalls mit Heubacillen infiltrirt war. Da aber die Section derjenigen Meerschweinchen, die nach der Impfung mit dem in dieser Milch gebildeten Toxin starben, stets die pathol. Erscheinungen der an Diphtherietoxin zu Grunde gehenden Thiere darbot, und die zum Schluss angeführten Versuche, die mit steriler Milch ausgeführt wurden, wie ich noch zeigen werde, in evidenter Weise dieselben Resultate ergeben, so konnten wohl auch diese Versuche mit in die Reihe der Beweise für die bei verschiedener Alkalescenz der Milch verschieden starke Toxinbildung gezogen werden.

Diese 4 Kolben wurden nun nach 8 Tagen aus dem Brutschrank genommen und zur Tödtung der Bacillen mit Chloroform versetzt. Am nächsten Tage wurde der Inhalt filtrirt.

Und von den durch das Filtrat erhaltenen vier verschieden alkalisirten Flüssigkeiten wurden je 3 ccm vier Meerschweinchen injicirt. Alle vier Meerschweinchen blieben leben. Gleichzeitig wurde die Virulenz der Diphtheriecultur geprüft, dieselbe ergab, dass 1 ccm Bacillencultur nöthig war, um ein Meerschweinchen von 250 g Gewicht tödten. Dank der Liebenswürdigkeit des Herrn Privatdocenten Dr. Günther erhielt ich darauf aus dem hygienischen Institut eine vollvirulente Cultur. Mit diesen wurden die Versuche wiederholt, d. h. von 4 Kolben Milch mit 200 ccm Inhalt wurden 3 verschieden stark alkalisirt und zwar ein Kolben mit 1 ccm, ein zweiter mit 2 ccm und der dritte mit 3 ccm 10proc. Na_2CO_3-Lösung und dann sterilisirt. Auch diese 4 Kolben wurden nach der Impfung im Brutschrank 8 Tage sich selbst überlassen, dann mit Chloroform versetzt, am nächsten Tage filtrirt, und nun erhielten 4 Meerschweinchen wiederum je 3 ccm von den durch die Filtration gewonnenen Flüssigkeiten. Alle 4 Meerschweinchen wurden am 5. Dec. 1896, Abends 6 Uhr geimpft mit je 3 ccm. Jetzt erhielt ich folgende Resultate:

1. Meerschweinchen, geimpft mit der nicht vorher alkalisirten (neutralen) Milch, starb am 7. Abends.
2. „ „ „ „ mit 1 ccm 10proc. Na_2CO_3 alkalisirten Milch, starb am 7. Morgens.

3. Meerschweinchen, geimpft mit der mit 2 ccm 10proc. Na_2CO_3 alkalisirten Milch, starb in d. Nacht vom 6. zum 7.
4. „ „ „ „ „ 3 „ „ Na_2CO_3 alkalisirten Milch, starb am 6. Abends.

Die Autopsie ergiebt in allen Fällen Oedem der Impfstelle und ausserordentlich starke parenchymatös veränderte Nebennieren.

Es wurden nun wiederum sämmtliche Thiere mit denselben 4 toxischen Flüssigkeiten am 7. December 1896, Abends 6 Uhr, geimpft, aber nur mit je einem Cubikcentimeter. Es ergaben sich folgende Resultate:

1. Meerschweinchen, geimpft mit der nicht vorher alkalisirten (neutralen) Milch, bleibt leben.
2. „ „ „ „ mit 1 ccm 10proc. Na_2CO_3 alkalisirten Milch, starb in der Nacht vom 11. zum 12.
3. „ „ „ „ „ 2 „ 10proc. Na_2CO_3 alkalisirten Milch, starb am 9. Morgens 8 Uhr.
4. „ „ „ „ „ 3 „ „ Na_2CO_3 alkalisirten Milch, starb am 10. Vormittags 10 Uhr.

Die Sectionen ergaben, dass in allen 3 Fällen Oedem der Impfstelle vorhanden war und sämmtliche Nebennieren parenchymatös verändert waren und zwar so, dass bei Thier 2 die parenchymatöse Veränderung am ausgesprochensten war.

Es wurden schliesslich noch 4 Meerschweinchen mit nur $^1/_2$ ccm derselben Flüssigkeit geimpft. Alle vier machen einige Tage einen schwerkranken Eindruck, bleiben aber leben.

Bei diesen Resultaten springt von vornherein in die Augen, dass die Alkalescenz einen entschiedenen Einfluss auf die Stärke der Toxinbildung in unseren Fällen hat. Denn aus dem ersten Versuche sehen wir, dass zwar alle Thiere zu Grunde gehen, weil die Quantität mit der die Injection gemacht wurde, 3 ccm, eine zu grosse gewesen, dass aber doch ein wesentlicher Unterschied in der Zeit besteht zwischen dem Tode des Meerschweinchens, das mit neutraler Milch geimpft und demjenigen, das mit stark alkalisirter Milch gespritzt war. Und zwar starben zu ziemlich gleicher Zeit bereits 24—30 Stunden nach der Injection die Meerschweinchen, die mit stärker (2 und 3 ccm Na_2CO_3) alkalisirter Milch geimpft waren, dann nach 12 Stunden dasjenige, das die schwächere Alkalescenz enthaltende Milch erhalten hatte und schliesslich dasjenige, das mit neutraler Milch geimpft war.

Noch prägnanter tritt dieses Moment hervor bei dem zweiten Versuch, wo nur 1 ccm injicirt wurde. Hier bleibt das Meerschweinchen, das mit neutraler Milch injicirt war, leben, während die drei anderen Meerschweinchen, die mit alkalisirter Milch geimpft waren, zu Grunde gehen, und zwar zuerst dasjenige, das die Injection der mit 2 ccm Na_2CO_3 alkalisch gemachten Milch erhalten, nach 36 Stunden, dann nach 3×24 Stunden dasjenige, bei welchem die Impfung der mit 3 ccm Na_2CO_3 alkalisirten Milch stattgefunden hatte, und schliesslich das, welches mit der am schwächsten (1 ccm Na_2CO_3) alkalisirten Milch gespritzt war.

Genau dieselben Resultate erhielt ich, als ich nach der Feststellung, dass die Milch vorher mit Heubacillen geimpft war, neue Controlversuche anstellte mit Milch, die ich nach meiner vorher angegebenen Art sterilisirte.

Ich wählte hierzu des schnelleren Verfahrens halber nur 50 ccm Milch und versetzte 3 Kölbchen mit je ½, 1 und 1½ ccm 10proc. Na_2CO_3, während ein Kölbchen neutral blieb. Auch diese Kölbchen nach Impfung mit Diphtheriebacillen wurden 8 Tage im Brutschrank sich selbst überlassen, dann, nachdem Culturen von ihnen angelegt — dieselben ergaben Reinculturen von Diphtheriebacillen — nach 24stündiger Einwirkung von Chloroform zur Abtödtung der Bacillen, filtrit. Von dem Filtrat wurden 4 Meerschweinchen 1 ccm injicirt, dieselben blieben sämmtlich leben, obgleich drei von ihnen, die mit alkalisirter Milch geimpft waren, einige Tage einen schwerkranken Eindruck machen. Nun wurden 4 anderen Meerschweinchen Injectionen von 2 ccm desselben Filtrates am Montag 6 Uhr Abends gemacht, und ich erhielt folgende Resultate:

1. Meerschweinchen, geimpft mit der nicht vorher alkalisirten (neutralen) Milch, bleibt leben.
2. „ „ „ „ mit ½ ccm 10proc. Na_2CO_3 alkalisirten Milch, stirbt Mittwoch Abends 9 Uhr.
3. „ „ „ „ „ 1 „ 10proc. Na_2CO_3 alkalisirten Milch, stirbt Donnerstag Abends 10 Uhr.
4. „ „ „ „ „ 1½ „ 10proc. Na_2CO_3 alkalisirten Milch, stirbt Sonnabend früh 8 Uhr.

Die Sectionen ergaben an allen Impfstellen Oedeme, parenchymatöse Nebennieren und zwar waren von Meerschweinchen 2 die Nebennieren ausserordentlich stark hyperämisch, die der beiden anderen Meerschweinchen nicht so stark.

Bei dem Vergleich dieses Versuches mit den vorigen muss natürlich in Betracht kommen, dass in den vorigen Versuchen 200 cm, in diesen nur 50 ccm Milch gebraucht werden. Es dürfte also einer Alkalescenz von von 2—4 ccm auf 200 ccm Milch ½—¾ ccm auf 50 ccm entsprechen und 4 ccm dort einer hier.

Demgemäss musste die am stärksten toxische leicht hier diejenige sein, die mit ½ ccm. Na_2 Co_3 alkalisirt ward, die nächst stärkere, die mit 1 ccm alkalisch gemacht war etc.

Genau diesem theoretischen Ergebniss entsprechen die praktischen Resultate. Das geimpfte Meerschweinchen, das mit der mit ½ ccm alkalisirten Milch gespritzt war, stirbt zuerst und zeigt die hyperämischen Nebennieren; dann folgt nach 24 Stunden dasjenige Meerschweinchen, das mit der mit 1 ccm Na_2CO_3 alkalisirten Milch gespritzt war und schliesslich das dritte, das mit einer höheren Grad von Alkalescenz besitzenden Milch geimpft war, während dasjenige Meerschweinchen, das die Toxine aus neutraler Milch erhalten hatte, leben bleibt.

Auffallend ist vielleicht noch die Thatsache, dass ich bei diesen Versuchen 2 ccm Toxine brauchte, während ich dieselben Resultate bei den vorigen Versuchen mit Injectionen von nur 1 ccm Toxin erhielt.

Hierfür dürfte als erster Grund anzugeben sein, dass bei den ersten Versuchen die Stärke des Toxins der Diphtheriebacillen 0,08 ccm betrug (d. s. 0,08 ccm einer Bouilloncultur waren nöthig, um ein 250 g schweres Meerschweinchen zu tödten), während bei diesen Versuchen — bei den dazwischen liegenden Intervallen musste ich natürlich eine neue Cultur gebrauchen — die Stärke des Toxins nur 0,2 ccm war.

Ob allein der Unterschied der Toxicität dieser beiden Culturen die Schuld an der grösseren Menge des Milchtoxins zur tödtlichen Dosis für die Meerschweinchen in dem letzten Versuche trägt, oder ob vielleicht die Entwickelung der Heubacillen bei den ersten Versuchen die Diphtheriebacillen bei der Stärke ihrer Toxinbildung unterstützt, mag dahingestellt sein.

Es genügt, zur Lösung dieser Frage in allen Versuchen gezeigt zu haben, dass eine Erhöhung der Alkalescenz der Milch eine stärkere Toxinbildung der Diphtheriebacillen in ihr zur Folge hat und zwar scheint die stärkste Toxinbildung einzutreten, wenn $^1/_2$ ccm $Na_2\ CO_2$ auf 50 ccm Milch oder 2 ccm auf 200 ccm zugesetzt wird. Mit der weiteren Erhöhung der Alkalescenz nimmt die Toxicität wieder ab, ist aber selbst bei höherem Grade von Alkalescenz noch immer stärker als bei der neutralen Milch.

Mit diesen Resultaten über das Diptherietoxin komme ich zu demselben Schluss, den Blumenthal in seiner Arbeit aus einem Versuche gezogen, die er mit Cholerabacillen angestellt hatte. Blumenthal fand, das $2^1/_2$—3 ccm Milch, die nach vorheriger Alkalisirung von 5 ccm einer 10proc. Lösung $Na_2\ CO_3$ mit Cholerabacillen beschickt und 4 Wochen im Brütschrank sich selbst überlassen war, genügte, um ein 250 g schweres Meerschweinchen in 6—12 Stunden zu tödten, während von neutraler Milch, die gleichfalls mit Cholerabacillen beschickt 4 Wochen im Brütofen gestanden hatte, 8—10 ccm zu demselben Resultate nöthig waren. Und so sind auch die vorliegenden mit einander evident übereinstimmenden Ergebnisse über die Toxinbildung der Diphtheriebacillen in der Milch ein weiterer und genauer Beweis dafür, dass die neutrale Reaction der Milch an der Hemmung von Toxinbildung in derselben Schuld ist und das die Toxinbildung des Diphth. Bac. bei einem gewissen Grad von Alkalescenz der Milch (auf 50 ccm Milch $^1/_2$ ccm $Na_2\ CO_3$ zugesetzt) ihren höchsten Grad erreicht.

Wenn ich nun noch zum Schluss die Toxinbildung der Diphtheriebacillen in der Milch in Parallele zu bringen suche mit dem Wachsthum derselben in der Milch, die ich am Anfang der Arbeit erwähnte und hierbei die von Schottelius angegebenen Resultate zu Hilfe nehme, so springt eigentlich ohne weitere Ueberlegung ein Resultat ins Auge, das schon oft ausgesprochen und doch immer wieder angezweifelt worden ist.

Schottelius giebt an, dass die Keime der Diphtheriebecillen in Bouillon 7600000 einer vollvirulenten Cultur betragen, vollvirulent, d. h. dass von den Toxinen dieser Bouilloncultur 0,2 ccm nöthig ist, um ein 250 g wiegendes Meerschweinchen schon innerhalb 24 Stunden zu tödten. In der sterilisirten Milch fand Schottelius 2280000 Keime, d. h. ein Drittel der Anzahl Keime, die in der Bouillon sich ergaben. Es müsste also eine drei mal so starke Dosis des Toxins in die Milch, die mit einer vollvirulenten Cultur geimpft war, nöthig sein, um ein Meerschweinchen zu tödten, d. h. 0,6 ccm. Thatsächlich brauchte ich aber mehr als 2 ccm des Diphtherietoxins, d. h. eine mehr als 20mal so starke Dosis einer neutralen Milch, zum Tode eines Meerschweinchens. Es hat also die neutrale Reaction der Milch keinen Einfluss auf das Wachsthum der Diphtheriebacillen in derselben, wie sie es auf die Toxine dieser Bacillen hat. Es steht demnach das Toxin der Diphtheriebacillen in keinem Verhältniss zu ihrer Vermehrung, ja nach einem Versuch, den ich noch mit roher Milch anstellte, wo Diphtheriebacillen nach Schottelius Angaben sich dreimal so stark entwickeln, als in der Bouillon, könnte ich eher auf den Schluss eines umgekehrt proportionalen Verhältnisses zwischen Toxin und Vermehrung der Bacillen kommen, als eines direct proportionalen. Das aber kann wohl als sicher hingestellt werden, dass die Vermehrung der Bacillen in unserem Falle in keinem Verhältniss zu ihrer Toxinbildung zu stehen braucht. —

Am Schlusse dieses zweiten Punktes, das Verhalten der Toxinbildung der Diphtheriebacillen in der Milch betreffend, anlangend, möchte ich mit Wiederholung der Ergebnisse, die sich durch die von den Diphtheriebacillen in der Milch hervorgerufenen Stoffwechselproducte ergeben haben, und derjenigen Bemerkungen, die über die Sterilisation der Milch gewonnen sind, den Inhalt der Arbeit dahin resumiren:

A. 1. Es ist wohl möglich, gewisse Quantitäten frischer Milch im Dampfkessel (Temp. ca. 100°) vollständig zu sterilisiren und zwar müssen

1—10 ccm Milch an 2 Tagen zu je zwei Stunden im Dampfkochtopf (bei strömendem Dampf) erhitzt werden,
50—200 ccm Milch an 3 Tagen zu je 2 Stunden,
300—500 ccm Milch an 4 Tagen zu je 2 Stunden,

um diese Mengen steril zu erhalten.

2. Geht man über die Temperatur von 100° hinaus (mit Benutzung der Autoclaven), so kann man in weit kürzerer Zeit Milch vollständig steril erhalten.

B. I. Die durch von Diphtheriebacillen in Milch hervorgerufenen Stoffwechselproducte (S. 23).

II. Die Toxinbildung der Diphtheriebacillen in der Milch.

1. Die Vermehrung der Diphtheriebacillen in der Milch steht in keinem directen Verhalten zu ihrer Toxinbildung.
2. Die neutrale Reaction der Milch beeinträchtigt die Toxinbildung der Diphtheriebacillen in derselben.
   a) Bis zu einem gewissen Grade von Alkalescenz der Milch ist die Toxinbildung in derselben noch grösser, als in neutraler Milch.
   b) Die Toxinbildung der Diphtheriebacillen in der Milch erhält bei einem bestimmten Grad von Alkalescenz der Milch (50 ccm Milch mit $^1/_2$ ccm 10proc. Na_2CO_3 versetzt) ihre höchste Intensität.

Worte ehrerbietigsten Dankes sage ich Herrn Geheimrath v. Leyden für das gütige Interesse, das er dieser Arbeit schenkte, sowie Herrn Prof. Salkowski für die stets liebenswürdige Unterstützung.

Vorzüglichen Dank weiss ich ferner Herrn Oberarzt Dr. Blumenthal für die Anregung zu dieser Arbeit und die freundliche Hilfe.

Thesen.

I.

Die Toxinbildung der Bakterien stehen nicht immer in directem Verhältniss zu ihrer Vermehrung.

II.

Der Soxhlet-Apparat ist in seiner heutigen Anwendung nicht von Vortheil.

III.

Die bei weiblichen Kranken vorkommende Septikämie ist nicht immer an ein vorangehendes Puerperium gebunden, sondern kann auch im Anschluss an eine an sich geringfügige Erkrankung (Entzündung) des Genitalapparates entstehen.

Lebenslauf.

Verfasser dieser Arbeit, Ludwig Feinberg, Sohn des Kaufmanns H. D. Feinberg zu St. Petersburg, geboren am 25. October 1871 zu Königsberg i. Pr., besuchte das Kneiphöfische Gymnasium zu Königsberg i. Pr. und verliess dasselbe mit dem Zeugniss der Reife im März 1892. Er studirte in Freiburg, Königsberg, Würzburg und Berlin Medicin. Im Sommersemester 1894 bestand er die ärztliche Vorprüfung in Würzburg, im März 1897 das Tentamen medicum und Examen rigorosum in Berlin.

Im Winter-Semester 1894/95 genügte er seiner Militärpflicht im 2. bayrischen Feld-Artillerie-Regiment „Graf Horn".

Seit September 1895 ist er auf der I. med. Klinik des Herrn Geheimrath v. Leyden als Amanuensis thätig.

Er besuchte auf den genannten Universitäten die zum Studium nöthigen Vorlesungen. Allen seinen hochverehrten Lehrern spricht er seinen vorzüglichsten Dank aus.